

## INVESTIGACION SOBRE LA MATERIA HUMICA DE SUELOS: DETERMINACION DE HIDROGENO CON DIBORANO

P O R

F. MARTÍN MARTÍNEZ

*Laboratorio de Química Agrícola del Politécnico Federal Suizo, Zúrich.*

*Recibido el 14 de marzo de 1964.*

### S U M M A R Y

A new method to determine hydroxyl groups in organic compound by volumetric evaluation of the hydrogen evolved is developed.

The quantity of hydrogen evolved is correct in different model substances. For an exact measurement 70-100 mg of problem substance is enough.

### INTRODUCCIÓN

En estudios sobre materia orgánica y en términos generales, todo átomo de hidrógeno unido a otro de nitrógeno, oxígeno o azufre, se considera hidrógeno activo.

Existen diversos reactivos para la determinación de este hidrógeno. Uno de ellos es el yoduro de metilmagnesio (reactivo de Grignard) ampliamente utilizado en el método conocido bajo el nombre de método de Zerevitinoff.

De un modo análogo se utiliza el hidruro de aluminio y litio, aunque existan algunas diferencias en el comportamiento de ambos, sobre todo frente a compuestos enolizables.

Los valores obtenidos varían con el disolvente empleado en el caso de los compuestos anteriormente citados, encontrándose valores más pequeños con el reactivo de Grignard, debido quizá a que la reacción con el hidruro es más rápida y hay menos tiempo para que se produzca la enolización.

Por otra parte, el empleo del hidruro de aluminio y litio, se ve dificultado por la poca solubilidad de este compuesto en éteres de bajo punto de ebullición y porque da lugar a valores distintos según el disolvente empleado.

Hochstein (1) ha realizado un estudio crítico de la utilización de este hidruro frente al reactivo de Grignard, encontrando que para una misma sustancia, el contenido en hidrógeno activo varía según se emplee uno u otro reactivo. Al mismo tiempo el empleo del hidruro de aluminio y litio lleva consigo la utilización de un aparato sumamente complicado, lo cual hace que las determinaciones de hidrógeno activo sean difíciles de llevar a cabo.

Se puede también determinar el hidrógeno activo por acetilación. Si la determinación de hidrógeno activo, se efectúa separando la muestra utilizada e investigando posteriormente en la misma el contenido en gru-

---

(1) HOCHSTEIN, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 305-307 (1949).

pos acetilo, el método está sujeto a varios errores, tales como 1) acetilación parcial de la muestra, 2) dificultad en eliminar el agente acetilante, 3) hidrólisis durante los lavados, 4) excesivas manipulaciones para determinar el contenido en acetilo, y 5) tiempo excesivo para llevar a cabo una sola determinación.

Por otra parte si no se separa la muestra acetilada, sino que se valora el ácido acético producido en su hidrólisis, el carácter ácido de la muestra interfiere a veces en dicha valoración.

E. Olleman (2) ha efectuado un estudio bastante amplio sobre la determinación en hidrógeno activo por acetilación, criticando diversos métodos y técnicas, así como el empleo de una gran variedad de agentes acetilantes.

En nuestros trabajos sobre la materia húmica del suelo (3) hemos empleado diborano como agente reductor, observando que también podía utilizarse para la determinación del hidrógeno activo, al estudiar efectos reductores del diborano en diversas sustancias modelo. A partir de estas experiencias se ha puesto en marcha un método rápido y eficaz para determinar hidrógeno activo. Al mismo tiempo en que efectuábamos estas experiencias en la materia húmica del suelo, Martín y Raymond R. (4) publicaron un trabajo que confirma nuestros resultados. El método empleado por estos autores difiere, sin embargo, del nuestro en que realizan la introducción de la sustancia (en disolución) con una jeringa hipodérmica, lo que requiere su pesada antes y después de la adición sobre una disolución de  $B_2H_6$ . El aparato empleado es asimismo más complicado y el método más costoso.

## PARTE EXPERIMENTAL

a) *Obtención del diborano*.—Los reactivos que se reseñan se purifican inmediatamente antes de su utilización.

El tetrahidrofurano se destiló primero simplemente, añadiéndose después con gran cuidado algunos gramos de hidruro de aluminio y litio, hasta que cesó el desprendimiento de hidrógeno, dejándolo estar durante algunas horas y volviendo a destilar de nuevo. El tetrahidrofurano así purificado, se conserva en un frasco de color topacio con hilos de sodio, con el fin de evitar la formación de peróxidos.

La diglima (éter dimetillico del dietilenglicol), se trató en primer lugar con hidruro cálcico durante cuarenta y ocho horas, destilándose luego al vacío.

El etileterato de trifluoruro de boro se destiló a vacío con algunos gramos de hidruro cálcico, adicionando previamente éter seco con el fin de asegurar la formación de etileterato. El producto destilado se conserva en un frasco de color topacio y en atmósfera de nitrógeno.

En la obtención del diborano se empleó el aparato que se muestra en la figura 1. Se compone de un matraz de tres bocas que lleva en la boca central un embudo de llave con presión igualada, mientras que por una

(2) OLLEMAN, E. D.: *Anal. Chem.*, **24**, 1425 (1952).

(3) MARTIN, F.; DUBACH, P.; MEHTA, N. C., y DEUEL, H.: *Z. Pfl. Düng. Bodenk.*, **103**, 27-39 (1963).

(4) MARTIN, D. E., y RAYMOND, R. J.: *Anal. Chem.*, **34**, 1007 (1962).

de las bocas laterales se introduce nitrógeno, y por la tercera sale la mezcla de este gas y diborano obtenido. Ambos gases se llevan luego a un matraz de dos bocas que contiene tetrahidrofurano, quedando el diborano retenido.

El nitrógeno y algo de diborano que no ha sido agsorbido por el tetrahidrofurano, se llevan a un tubo de ensayo con tubuladura lateral, que contiene en el fondo mercurio (actuando como válvula) y algunos  $\text{cm}^3$  de acetona. Esta última sirve para impedir el escape de diborano, ya que éste reacciona rápidamente con la acetona para formar disopropoxyborano.

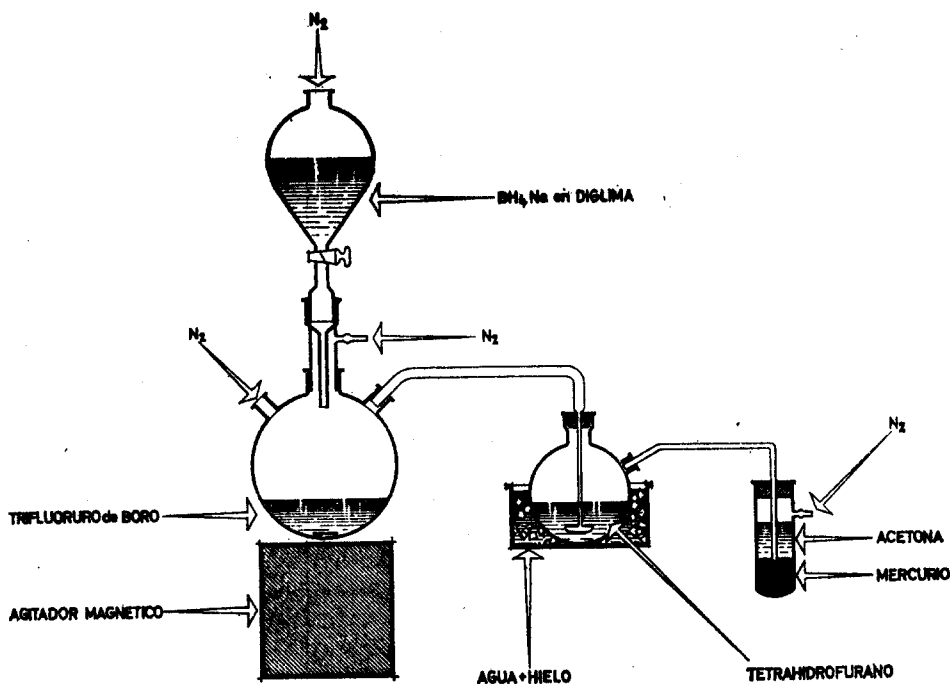


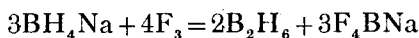
Figura 1

Se utiliza un agitador magnético con el fin de mezclar bien los productos de la reacción.

Es esencial que el sistema esté totalmente limpio y exento de humedad, para lo cual cada una de sus partes debe lavarse cuidadosamente y secarse después de dejándolo estar durante algunas horas a  $100^\circ \text{C}$ , montándose a continuación el aparato y pasando desde el comienzo de esta operación una corriente de nitrógeno seco. Una vez instalado y sin adicionar los reactivos, se flamea con la flama de un mechero de gas, con el fin de eliminar los últimos restos de humedad, pasando incesantemente nitrógeno y dejándolo enfriar.

Se prepara una solución 1 molar de borohidruro sódico en diglima, disolviendo 7,6 g de aquél en 200 ml de diglima; se agita durante algunas horas (el borohidruro es difícilmente soluble en diglima) y se introduce luego en el embudo de decantación. En el matraz de tres bocas se ponen 50 ml de etileterato de trifluoruro de boro; y en el matraz de absorción, 120 ml de tetrahidrofurano.

Se deja gotear lentamente la solución de borohidruro sódico sobre el trifluoruro de boro, dando lugar a la reacción siguiente:



El diborano producido es arrastrado por el nitrógeno quedando absorbido por disolución en el tetrahidrofurano. Al finalizar el goteo de la solución de borohidruro, se calienta el matraz de tres bocas, durante media hora en baño de aceite a 60-70° C con el fin de completar la reacción.

Con las cantidades indicadas se obtiene una solución aproximadamen-

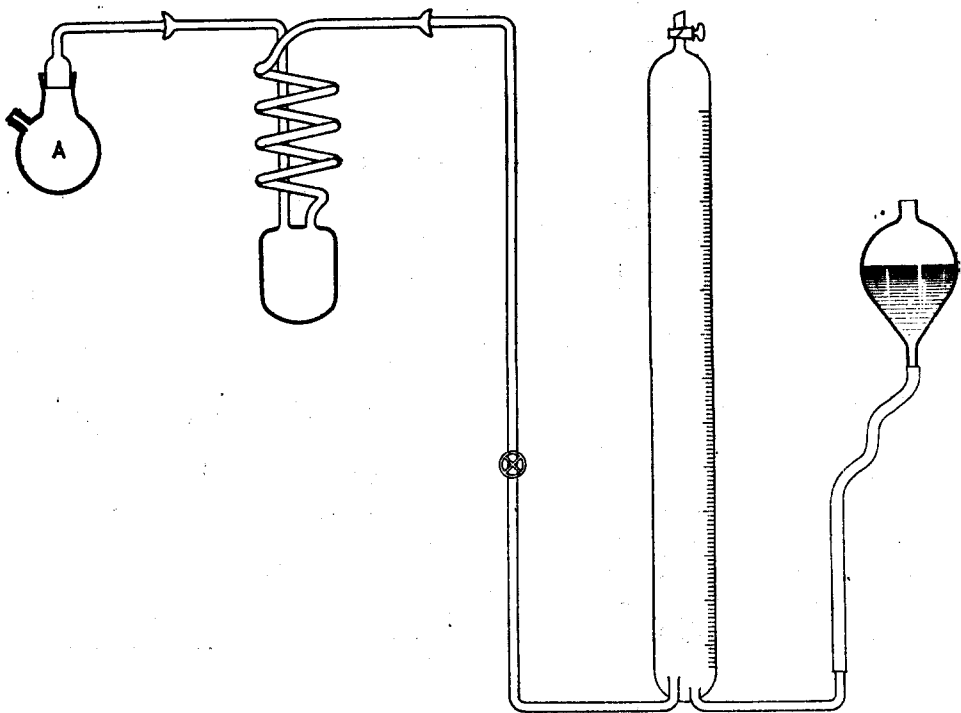


Figura 2

te 1 molar de diborano que puede conservarse en un refrigerador sin pérdida de actividad durante unos dos meses.

b) *Determinación del hidrógeno activo.*—En nuestras experiencias se ha utilizado el aparato que se muestra en la figura 2. Consiste en un matraz con tubuladura lateral, en la que se ajusta un tapón de goma especial que puede atravesarse con una jeringa hipodérmica. A continuación se encuentra un refrigerante, cuyo fin es condensar los vapores de agua, para que estos no lleguen al matraz de reacción y reaccionen con el diborano allí introducido, ya que esto originaría un desprendimiento de hidrógeno que no correspondería al desarrollado por la sustancia a investigar. Por último se encuentra una bureta, calibrada desde 1 a 150 cm<sup>3</sup> (en la que se pueden apreciar lecturas del orden de 1/4 cm<sup>3</sup>) y recipiente de nivelación unido por un tubo de goma a la bureta de lectura.

La sustancia a investigar, perfectamente seca, se pasa en el interior del matraz, por medio de una pipeta, se añade una cantidad determinada de tetrahidrofurano. Inmediatamente se une el matraz al aparato de medida y se espera algún tiempo hasta que el nivel del agua en el tubo de entrada a la bureta, permanece constante. En este momento y por medio de una jeringa se introduce en el matraz de reacción y a través del tapón de goma, una cantidad determinada de diborano. Si la sustancia a investigar es soluble en tetrahidrofurano, el desprendimiento de hidrógeno es inmediato, completándose en un período de tiempo comprendido entre dos y cinco minutos. Se lleva de nuevo el nivel de agua hasta la altura inicial, procediéndose luego a la lectura en la bureta.

En el caso que la sustancia a investigar no sea soluble en tetrahidrofurano o cualquier otro disolvente inerte al diborano, se procede del mismo modo indicado, pero suspendiendo la sustancia en tetrahidrofurano o bien trabajando directamente sobre el sólido.

En las mismas condiciones descritas se efectúa un ensayo en blanco, cuyo resultado se resta del valor obtenido con la sustancia en investigación. Finalmente el volumen de hidrógeno así obtenido se refiere a condiciones normales.

Otro método, y con el fin de obviar la prueba en blanco, consiste en pesar tres cantidades distintas de la sustancia a investigar, disolverlas o suspenderlas en idéntica cantidad de tetrahidrofurano y adicionar asimismo igual cantidad de diborano. Las lecturas de hidrógeno desprendido en los tres casos se llevan a una gráfica, dando lugar a tres puntos que deben de encontrarse en línea recta. La diferencia entre cualquiera de dos de los puntos indica la cantidad desarrollada por una cantidad de sustancia igual a la diferencia de peso a que corresponden dichos puntos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las sustancias modelo no han sido elegidas arbitrariamente sino a la vista de los resultados obtenidos por otros autores en estudios sobre la degradación de la materia húmica del suelo (5, 6, 7, 8), puesto que el presente método se ha desarrollado para el estudio de dicha clase de materia orgánica.

Todas las sustancias fueron previamente desecadas a 40° C en alto vacío y en presencia de pentóxido de fósforo. Todas ellas se disolvieron o suspendieron en 5 ml de tetrahidrofurano añadiendo 2 ml de la solución de diborano.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla I.

El diborano, empleado desde hace poco tiempo como agente reductor (9) se ha revelado también, al igual que el hidruro de aluminio y litio, como reactivo capaz de ser empleado la determinación del hidrógeno activo tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas.

(5) COFFIN, D. E., y DELONG, W. A.: Trans 7th Int. Congr. Soil Sci., Vol. II, 91 (1960).

(6) JAKAB, T.: Diss. E. T. H., Zürich (1963).

(7) SCHEFFER, F., y KICKUTH, R.: Z. Pfl. Düng. u. Boden., 94, 180-198 (1961).

(8) STEELINK, C., y colab.: Sci. Roy. Dublin A, 1, 59-67 (1960).

(9) BROWN, H. C., y SUBBA RAO, B. C.: J. Am. Chem. Soc., 82, 681 (1960).

TABLA I

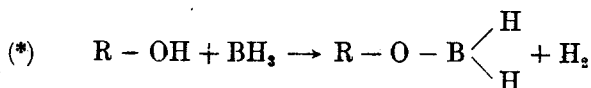
*Hidrógeno desarrollado por reacción de sustancias modelo con diborano*

SUSTANCIA	Peso (mg)	H <sub>2</sub> desarrollado (ml)	Moles H <sub>2</sub> /mol OH
Pirocatequina ... ..	110	46	2,05
	102	41	1,98
	74	30	2,00
Resorcina ... ..	110	44	1,93
	80	33	2,01
Hidroquinona ... ..	125	51	2,00
	94	38	1,97
Fluoroglucina ... ..	124	66	3,00
	70	37	2,97
ac. 3,4-dihidroxibenz. ... ..	130	57	3,01
	105	46	3,01
ac. 2,4-dihidroxibenz. ... ..	120	52	2,98
ac. 3,5-dihidroxibenz. ... ..	145	63	2,93
	80	35	3,00
ac. vanílico ... ..	150	40	2,00
	92	24	1,96
ac. <i>p</i> -cumárico ... ..	130	35	1,98
	102	28	2,01
ac. <i>o</i> -cumárico ... ..	142	39	2,01
	83	23	2,02
Quinona ... ..	93	0	0,00
ac. benzoico ... ..	112	20	0,98
	71	13	1,01
2,5-dihidroxiquinona ... ..	120	39	2,02
	75	25	2,00
ac. mucónico ... ..	130	41	2,00
	85	27	2,01
ac. isoftálico ... ..	140	38	2,00
	118	32	2,00
ac. cafeico ... ..	164	45	3,00
	101	28	3,00

Aparte del problema especial que plantea su estructura, existen aún numerosas lagunas en la química de este compuesto. Así, por ejemplo, su poder reductor ha sido estudiado y determinado en numerosas sustancias (10), pero no se ha aclarado aún de una manera satisfactoria como transcurre esta reacción de reducción (10).

(10) BROWN, H. C., y KORTUYLE, W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3866 (1960).

La reacción con los grupos hidróxilos parece ser que tiene lugar del modo siguiente:



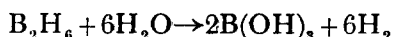
desprendiéndose por tanto un mol de hidrógeno por cada grupo OH presente. De una manera análoga reacciona con otros hidrógenos activos, aunque en los derivados de  $R-NH_2$  y  $R-NH-H$  la reacción está condicionada a la mayor o menor basicidad de las sustancias.

Con el grupo carboxílico la reacción parece transcurrir del modo siguiente:



desprendiéndose también un mol de hidrógeno por grupo carboxilo. En este caso, sin embargo, la reacción no se detiene en esta etapa sino que prosigue (de una manera no conocida) hasta dar lugar por reducción al alcohol correspondiente. Este último se obtiene como producto al hidrolizar la mezcla de reacción, en tanto que en el caso de grupos hidroxílicos, el producto de hidrólisis es la misma sustancia inicial.

La eliminación de agua en las muestras es muy importante ya que el diborano reacciona rápidamente con aquella dando lugar a un desprendimiento de hidrógeno, según la ecuación siguiente:



pero como el ácido bórico tiene tres grupos hidróxilos, éstos reaccionan con el diborano desprendiéndose un mol de hidrógeno por cada grupo.

En la serie de sustancias modelo investigadas, el desprendimiento de hidrógeno tuvo lugar de una manera rápida y cuantitativa completándose la reacción al cabo de unos cinco minutos. Se observó, sin embargo, que la reacción transcurría mucho mejor cuando no era eliminada el agua absorbida de la muestra. Se utilizó por ello la muestra desecada al aire, efectuándose posteriormente una corrección debida al agua absorbida y determinada por pérdida de peso.

En todos los casos fue necesario efectuar una prueba en blanco, para corregir el efecto debido al agua que contiene el tetrahidrofurano (a pesar de redestilarse varias veces) y a la humedad del matraz de reacción.

Las tres últimas sustancias de la tabla I, no solubles en tetrahidrofurano, se suspendieron en este medio. La reacción transcurre, no obstante, del mismo modo que con las sustancias solubles en tetrahidrofurano.

En el presente trabajo se han empleado cantidades de sustancia comprendidas entre 70 y 75 mg. En los trabajos experimentales, es conveniente realizar ensayos con cantidades diversas comprendidas entre los valores anteriormente mencionados, con el fin de que el desarrollo de hidrógeno sea una cantidad bien mesurable (en función del volumen de la bureta). En todos los casos es suficiente adicionar uno o dos cm<sup>3</sup> de diborano 1 M, existiendo siempre un exceso de hidruro. De esta manera el

(\*) En lo sucesivo, y tal como se encuentra en la literatura al respecto, se formulará el diborato como  $BH_3$ .

método resulta más económico y se evita al mismo tiempo un excesivo empleo de diborano que es un reactivo muy tóxico, siendo por ello conveniente realizar todos los ensayos en vitrinas de buen tiro.

En ninguna de las sustancias modelo utilizadas se produjo la aparición de precipitado tras la adición de diborano. Solamente al cabo de una media hora de terminada la reacción de desprendimiento de hidrógeno, se observó una ligera opalascencia en alguna de las muestras.

Sin embargo, en el estudio de la materia húmica del suelo (11) se producían unos precipitados que dificultaban el normal desarrollo de hidrógeno, bien por absorción del exceso de diborano por el precipitado o bien por la oclusión en este de algo de hidrógeno. En estos casos la prueba en blanco es de poco valor, por lo que se recomienda efectuar el ensayo con tres muestras de distinto peso, tal como se indicó anteriormente.

### CONCLUSIONES

Se propone un nuevo método para la determinación cuantitativa de grupos hidróxilos, mediante la medida volumétrica del hidrógeno desarrollado en la reacción de las sustancias a investigar con diborano.

En las diferentes sustancias modelo utilizadas para poner en marcha el método, los resultados prácticos obtenidos concuerdan con los teóricos. El método se ha desarrollado principalmente para sustancias solubles en disolventes inertes con el diborano, aunque también se obtienen buenos resultados con sustancias no solubles, suspendidas en los disolventes anteriores.

Se desprende un mol de hidrógeno por cada ion-gramo de grupo hidróxilo presente. La reacción se lleva a efecto completamente entre dos y cinco minutos.

---

El autor agradece al Consejo Superior de Investigaciones Científicas la concesión de una beca y al Fonds zur Förderung deswald und Holzfor-schung la financiación de parte de este trabajo. A los Drs. Dubach y Mehta, por su constante apoyo, mi más profunda gratitud.

---

(11) MARTIN, F.: Tesis doctoral, 1963.